

Toxicidad oral del D-004 en ratas Sprague Dawley

Oral toxicity of D-004 in Sprague Dawley rats

MSc. Ariadne Gutiérrez Martínez, Dr. C. Rafael Gámez Menéndez, Dra. Miriam Noa Puig, Dra. Rosa Mas Ferreiro, MSc. Maikel Valle Clara, Téc. Edy Goicochea Carrero

Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el D-004 es un extracto lipídico de los frutos de la palma real (*Roystonea regia*), constituido por una mezcla de ácidos grasos, principalmente oleico, palmítico, láurico y mirístico, que ha mostrado prevenir la hiperplasia prostática inducida con testosterona y fenilefrina en roedores.

Objetivos: determinar los efectos tóxicos del D-004 administrado por vía oral a dosis de hasta 2 000 mg/kg, a ratas Sprague Dawley de ambos sexos.

Métodos: se evaluó la toxicidad aguda de D-004 (2 000 mg/kg) por el método de las clases. En el estudio subcrónico, se trataron las ratas con dosis de 500, 1 000 and 2 000 mg/kg por 90 días, mientras que en la evaluación crónica los animales se administraron con D-004 a las dosis de 800, 1 500 y 2 000 mg/kg/día durante 12 meses.

Resultados: no se mostró ningún efecto tóxico relacionado con el tratamiento. No existieron diferencias significativas en el peso corporal, consumo de alimentos y agua, observaciones clínicas, bioquímica y hematología sanguínea, peso de órganos y hallazgos histopatológicos entre grupos tratados y el control.

Conclusiones: Los estudios no muestran toxicidad oral asociada al D-004, aun a la dosis más alta investigada, 2 000 mg/kg, por lo que esta puede considerarse una concentración de dosis en la que no existen efectos tóxicos en ratas.

Palabras clave: D-004, ácidos grasos, hiperplasia prostática, toxicidad.

ABSTRACT

Introduction: D-004 is a lipid extract from the Cuban royal palm tree (*Roystonea regia*) fruits, containing a mixture of fatty acids, mainly oleic, palmitic, lauric and myristic. This mixture has proved to prevent prostatic hyperplasia induced with testosterone and phenylephrine in rodents.

Objective: to determine toxic effects of D-004 orally administered at doses up to 2 000 mg/kg, to Sprague Dawley rats from both sexes.

Methods: oral acute toxicity of D-004 (2 000 mg/kg) was investigated according to the Acute Toxic Class Method. In the subchronic study, rats were treated with D-004 at 500, 1 000 and 2 000 mg/kg for 90 days while in the chronic study, animals were administered with D-004 at 800, 1 500 and 2 000 mg/kg/day during twelve months.

Results: no evidence of treatment-related toxicity was detected. Thus, clinical observations, control of body weight and food consumption, blood biochemical and haematological parameters, organ weight ratios and histopathological findings showed no significant differences between control and treated groups.

Conclusions: these studies showed no evidences of D-004-related oral toxicity, even at the highest dose investigated (2 000 mg/kg). Hence, this dose represents a non-toxic dose level in rats.

Key words: D-004, fatty acids, prostatic hyperplasia, toxicity.

INTRODUCCIÓN

La hiperplasia prostática benigna (HPB) es un crecimiento anormal y no maligno de la próstata que conlleva a la obstrucción del flujo urinario y a la aparición de un conjunto de síntomas del tracto urinario bajo (STUB), como retención urinaria, disminución del volumen de orina y de la presión de la micción, latencia aumentada para orinar, nicturia, irritación o incontinencia vesical, los que varían en intensidad y que en parte, aunque no exclusivamente, dependen del grado de obstrucción existente.¹⁻⁴ Esta afección junto al cáncer de próstata y la prostatitis se encuentra entre los procesos patológicos más relevantes que afectan la próstata.⁵⁻⁷

La etiopatología de la HPB, aunque no está dilucidada completamente, involucra factores hormonales y no hormonales que ocurren en el envejecimiento.^{1,2,8} El principal factor etiológico hormonal para el desarrollo de la HPB es el aumento de la conversión de la testosterona (T) en su metabolito más activo, la dihidrotestosterona (DHT) por acción de la enzima 5-reductasa, ya que la DHT acumulada en la próstata propicia la liberación de factores de crecimiento que conllevan a la hiperplasia del tejido.⁹ Por otra parte, el aumento del tono del músculo liso de la próstata regulado por los receptores adrenérgicos α_1 es el factor no hormonal responsable de los STUB característicos de la HPB.¹⁰

Las principales opciones de la terapia farmacológica de la HPB son los inhibidores de la enzima 5 α -reductasa prostática, los antagonistas α 1-adrenérgicos y la terapia combinada con ambos, recomendada en casos con HPB severa o refractaria.⁸⁻¹⁰

El tratamiento oral con D-004, extracto lipídico de los frutos de la palma real (*Roystonea regia*), constituido por una mezcla de ácidos grasos, principalmente oleico, palmítico, láurico y mirístico, ha mostrado prevenir la hiperplasia prostática (HP) inducida por testosterona y fenilefrina en roedores.¹¹⁻¹⁵ Estos efectos están relacionados con su capacidad de inhibir la actividad de la 5-reductasa prostática¹⁶ y de antagonizar los receptores α -adrenérgicos.¹⁵⁻¹⁷

El objetivo del presente estudio consiste en determinar los efectos tóxicos del D-004 administrado vía oral a dosis de hasta 2 000 mg/kg, a ratas Sprague Dawley de ambos sexos.

MÉTODOS

Animales. Se utilizaron ratas Sprague Dawley adultas jóvenes (5-8 semanas) de ambos sexos procedentes del Centro de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana, Cuba), cuyo peso corporal oscilaba entre 150-220 g.

Los animales se colocaron en jaulas y se adaptaron durante 7 días a las condiciones del laboratorio. La temperatura se mantuvo en 25 \pm 2 °C, la humedad entre el 50-70 % y la iluminación en ciclos de 12 h. El alimento fue pienso estándar para ratas preparado en el CENPALAB. En el estudio crónico a partir de la semana 14, se realizó una restricción del alimento del 50 % del consumo promedio. El acceso al agua fue *ad libitum*.

Estos estudios se realizaron de acuerdo con las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio vigentes en la República de Cuba y los principios metodológicos internacionales para la realización de estos estudios, así como los principios éticos para el uso de los animales de laboratorio.

Administración y dosificación. El D-004 se obtuvo en la Planta de Producción, tras corroborar su composición por cromatografía gaseosa. La sustancia se administró por vía oral, usando como vehículo Tween 65 (2 %) y se preparó diariamente, realizando los ajustes de la dosis según el peso corporal.

La toxicidad aguda fue realizada según el método de las clases (ATC),^{18,19} comenzando por la dosis máxima recomendada en este diseño experimental (2 000 mg/kg). En el estudio subcrónico y crónico las ratas se distribuyeron de modo aleatorio en 4 grupos, un grupo control (Tween 65/H₂O) y tres grupos tratados con D-004.

Tomando en consideración que en las experiencias farmacológicas realizadas con el D-004 la dosis de 500 mg/kg fue la dosis máxima efectiva y que dosis de hasta 800 mg/kg no mostraron toxicidad asociada al D-004, se definieron las dosis siguientes para el estudio subcrónico: 500, 1 000 y 2 000 mg/kg, y para el crónico dosis de 800, 1 500 y 2 000 mg/kg/día, durante 3 y 12 meses respectivamente.

Observaciones y determinaciones

Estudio agudo. Los animales fueron observados y palpados diariamente. Las observaciones incluyeron cambios en la piel y en el pelo, en los ojos y membranas mucosas, en los sistemas respiratorios, circulatorio, nervioso central y autónomo, actividad somatomotora y comportamiento. El peso corporal se controló al inicio y al final de la experiencia. La incidencia de cambios macroscópicos fue evaluada durante la necropsia realizada 14 días después de la administración.

Estudios subcrónico y crónico. Las observaciones clínicas fueron realizadas dos veces al día, en la mañana y en la tarde, observándose también la aparición o no de masas o abscesos evidentes al tacto.

El consumo de alimento y el peso corporal fueron registrados semanalmente. En el estudio crónico, después de la semana 13, estos parámetros se registraron mensualmente hasta el final de la experiencia.²⁰ De igual manera se registró en este estudio el consumo de agua. Los protocolos contemplaban la eutanasia en los animales moribundos y/o en aquellos que mostraron una disminución significativa del peso corporal.

En todos los casos los animales sobrevivientes fueron sacrificados después de concluida la fase experimental. Previo al sacrificio, los animales fueron aislados en cajas individuales y sometidos a ayuno por 12 h.

En los estudios de dosis repetidas se tomaron muestras de sangre venosa para la determinación de parámetros de bioquímica sanguínea y hematología. Las determinaciones bioquímicas se hicieron por métodos colorimétricos enzimáticos, mientras que la hematología con el empleo del autoanalyzer SySMEX modelo KX-21N.

Durante la autopsia, se examinaron las cavidades abdominal, torácica y craneana. Inmediatamente después de realizada la observación macroscópica de los órganos, se pesaron y se tomaron muestras de corazón, timo, pulmones, hígado, bazo, riñones, próstata, testículos y útero. Y en el estudio crónico además se pesaron adrenales, ovarios, epidídimos, vesículas seminales con glándula coagulante, músculo bulbocavernoso elevador del ano, glándulas bulbouretrales y prepuciales. Para el análisis histopatológico, en los estudios dosis repetidas se tomaron muestras de cerebro, cerebelo, glándula pituitaria, ojos, aorta, nódulos linfáticos, glándulas salivales, lengua, tráquea, bronquios, vagina, vesículas seminales, esófago, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon, páncreas, tiroides con paratiroides, vejiga urinaria, médula ósea, músculo esquelético, piel y nervio ciático;^{20,21} las muestras obtenidas se fijaron en formaldehído al 10 % tamponado y se colorearon con hematoxilina y eosina.

Las variables continuas fueron analizadas a través de un análisis de varianza (ANOVA), mientras que los datos categóricos se analizaron mediante la prueba de la probabilidad exacta de Fisher. El nivel de significación establecido fue $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Estudio agudo. No ocurrieron muertes en el transcurso de la experiencia ni se manifestaron signos indicativos de toxicidad relacionadas al tratamiento, afectación en el peso corporal ([tabla 1](#)), y en la necropsia no se apreció daño en órganos, tejidos y cavidades de ninguno de los animales.

Estudio subcrónico. No ocurrieron muertes ni se observaron signos de toxicidad. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al peso corporal (tabla 1) ni al consumo de alimentos entre animales de grupos tratados y controles

La [tabla 2](#) muestra los datos de los parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea. El análisis de estos indicadores no reveló diferencias significativas entre los diferentes grupos.

En la necropsia no se detectaron lesiones macroscópicas en órganos y cavidades. El análisis del peso de los órganos respecto al peso corporal (%) tampoco mostró diferencia entre grupos tratados y controles. El estudio histopatológico solo reveló dos lesiones presentes en hembras del grupo control: una metamorfosis grasa discreta de hígado y un quiste epidérmico.

Estudio crónico. Durante el estudio murieron cuatro animales, un macho del grupo control y tres hembras (dos del grupo 2 000 mg/kg, uno del grupo control). No hubo diferencias significativas en la frecuencia de mortalidad entre grupos tratados y controles. Una de las hembras que murió en el grupo de la dosis mayor se debió a errores en la entubación gástrica; el análisis macroscópico posmortem evidenció la presencia de la emulsión administrada en las vías respiratorias, así se corrobora la causa de muerte. Las restantes tres muertes durante la fase experimental (una hembra del grupo control, una del grupo de 2 000 mg/kg y un macho del grupo control) estuvieron relacionadas con la presencia de tumoraciones y en todos los casos los animales presentaban signos de deterioro de su estado de salud y pérdida de peso corporal, razón por la cual se les practicó la eutanasia. La hembra del grupo de 2 000 mg/kg mostró prolapso vaginal y signos de hemorragia, y la necropsia evidenció una tumoración polipoide en vagina. Por su parte, los animales de los grupos controles presentaron tumoraciones en sus extremidades que fueron histiocitomas. El primer sacrificio se produjo tras 8 meses de tratamiento. Con respecto a los datos de la mortalidad, las observaciones clínicas no mostraron signos de toxicidad durante el estudio.

El consumo de alimento y agua y el peso corporal (tabla 1) fueron similares entre los grupos controles y tratados, al igual que lo observado en los parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea ([tabla 3](#)). El peso relativo de los órganos tampoco mostró diferencias significativas o tendencias con las dosis.

Las lesiones no neoplásicas observadas con más frecuencia fueron hipófisis congestiva y glomerulonefrosis. Esta última se encontró en dos machos y en dos hembras del grupo control, y en un macho de la dosis de 800 mg/kg, y en uno de 1 500 mg/kg. Se encontraron varias lesiones inflamatorias, todas con muy baja frecuencia y sin diferencias entre grupos tratados y controles. Asimismo, en cuatro animales del grupo control (machos) se observó atrofia testicular, al igual que en dos animales tratados con 800 y 2 000 mg/kg respectivamente, y se observó hiperplasia endometrial en tres animales de la dosis máxima y en dos del grupo control.

Además, fueron encontrados tumores en tres ratas del grupo control (un macho y dos hembras) y cuatro tratadas (un macho y tres hembras), incluyendo las lesiones de las tres ratas a las que se les practicó la eutanasia, referidas anteriormente. Las lesiones neoplásicas observadas fueron: tres histiocitomas, tumores del tejido celular subcutáneo, todos en el grupo control: dos malignos (dos hembras), uno benigno (un macho). A un macho tratado con 1 500 mg/kg se le encontró un adenoma de hipófisis, mientras tres hembras tratadas (una de cada grupo) mostraron lesiones en el tracto genital: un pólipo endometrial (800 mg/kg), un timoma (1 500 mg/kg) y un leiomioma (2 000 mg/kg). La incidencia de estos tumores fue muy baja no atribuible al tratamiento; no encontraron diferencias significativas entre grupos controles y tratados ([tabla 4](#)).

DISCUSIÓN

En estos estudios no aparecieron muertes o evidencias de toxicidad atribuibles al D-004. Considerando que el D-004 administrado por vía oral de 100 a 800 mg/kg durante 14 días previene la HP inducida por testosterona en ratas, la falta de toxicidad encontrada no puede estar relacionada con inadecuada exposición de la sustancia.

Los resultados de los estudios agudos permiten definir que el D-004 debe tener una toxicidad aguda superior a los 2 g/kg en ratas Sprague Dawley y que por tanto, según la metodología empleada su toxicidad es no clasificable.

Ninguno de los estudios reveló toxicidad o sintomatología clínica con dosis de hasta 2 000 mg/kg. Igualmente, los valores individuales de todos los parámetros evaluados (peso corporal, consumo de alimentos, bioquímica sanguínea, hematología y peso de los órganos) se encuentran dentro de los límites normales para la especie.²²

Solo hubo mortalidad en el estudio crónico y fue baja, comparado con otros estudios realizados en esta especie/línea,^{22,23} al igual que los hallazgos histopatológicos, tomando en consideración que fue un estudio crónico de un año, tiempo que se asocia en las ratas con un incremento en la incidencia de lesiones espontáneas y mortalidad por estas causas.

La glomerulonefrosis fue la lesión más frecuente, aunque no se asoció al tratamiento. Esta lesión es la afección renal más común en ratas adultas y longevas;²⁴ su patogénesis es incierta, aunque se asocia a disfunción de la membrana basal. El glomérulo muestra variedad de cambios (glomeruloesclerosis focal o difusa) y presencia de células inflamatorias en el intersticio.

Otras lesiones frecuentes fueron de carácter inflamatorio, como prostatitis, las cuales son frecuentemente observadas en ratas de esta edad. No obstante, la frecuencia de estas lesiones era baja y sin diferencias entre grupos.

Todos los hallazgos encontrados son frecuentemente observados en esta especie, línea y edad,²⁵ por lo que consideramos que no son atribuibles al tratamiento.

En el presente estudio se observaron algunas lesiones neoplásicas tanto benignas como malignas, como los histiocitomas. Estos tumores son variedades de

histiocitomas que se observan de manera espontánea con frecuencia en ratas de esta edad,²⁵ tal como lo evidencia el hecho de que se hayan manifestado en animales de los grupos controles.

Igualmente se observó un pólipo endometrial y un timoma. Esta última, es una neoplasia, no invasiva, se observa espontáneamente en esta especie.^{24,25} Todos estos tumores se observaron en muy baja frecuencia y sin dependencia de tratamiento, ocurriendo todos con frecuencia en esta especie animal y a esta edad.²⁵

Estos resultados sostienen que el tratamiento oral de dosis únicas o repetidas de hasta 2 000 mg/kg es seguro y bien tolerado en ratas Sprague Dawley de ambos sexos, sin mostrar toxicidad atribuible al tratamiento. Esta aseveración se basa en los resultados de mortalidad, observaciones clínicas, peso corporal, indicadores hematológicos y de bioquímica sanguínea, peso relativo de los órganos y estudio anatomopatológico. Por tanto, la mayor dosis investigada (2 000 mg/kg) se comportó como un nivel de dosis que no produjo efectos tóxicos en ratas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Connolly SS, Fitzpatrick JM. Medical treatment of benign prostatic hyperplasia. *Postgrad Med J.* 2007;83:73-8.
2. Lourenco T, Pickard R, Vale L, Grant A, Cynthia F, MacLennan G, et al. Minimally invasive treatments for benign prostatic enlargement: systematic review of randomised controlled trials. *BMJ.* 2008;337:1662-6.
3. Sampson N, Madersbacher S, Berger P. Pathophysiology and therapy of benign prostatic hyperplasia. *Wien Klin Wochensh.* 2008;120:390-401.
4. Roehrborn C. BPH progression: concept and key learning from MTOPS, COMBAT, and ALF-ONE. *BJU Int.* 2008;101:17-21.
5. Simpson RJ. Benign prostatic hyperplasia. An overview of epidemiology and treatment. *Primary Care New NHS.* 2001;25:184-6.
6. Fernández A, Pereira S. Hiperplasia benigna de próstata: una afección de elevada prevalencia en el paciente de edad avanzada. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2008;43(1):44-51.
7. Alcaraz A, Hammerer P, Tubaro A, Schröder FH, Castro R. Is there evidence of a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer? Findings of a Literature Review. *Eur Urol.* 2009;55:864-75 .
8. Carson C, Rittmaster R. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 2003;61:2-7.
9. Schwinn D, Roehrborn C. Alpha1-adrenoceptor subtypes and lower urinary tract symptoms. *Int J Urol.* 2008;15:193-9.

10. Jewett MAS, Klotz LH. Advances in the medical management of benign prostatic hyperplasia. CMAJ. 2007;176:1850-1.
11. Arruzazabala ML, Carbajal D, Mas R, Molina V, Rodríguez E, González V. Preventive effects of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm (*Rostoynea regia*) fruits, on prostate hyperplasia induced with testosterone on intact and castrated rodents. Drugs Exp Clin Res. 2004;30:227-34.
12. Carbajal D, Arruzazabala ML, Mas R, Molina V, Rodríguez E, González V. Effects of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm fruit, on inhibiting prostatic hyperplasia induced with testosterone or dihydrotestosterone in a rat model: a randomized, controlled study. Curr Ther Res. 2004;65:505-14.
13. Carbajal D, Molina V, Mas R, Arruzazabala ML. Therapeutic effect of D-004, a lipid extract from Roystonea regia fruits, on prostate hyperplasia induced in rats. Drugs Exp Clin Res. 2005;31:193-7.
14. Noa M, Arruzazabala ML, Carbajal D, Mas R, Molina V. Effect of D004, a lipid extract from Cuban royal palm fruit, on histological changes of prostate hyperplasia induced with testosterone in rats. Int J Tissue React. 2005;27:203-11.
15. Pérez Y, Menéndez R, Mas R, González RM. *In vitro* effect of D-004, a lipid extract of the fruit of the Cuban royal palm (*Roystonea regia*), on prostate steroid 5 α -reductase activity. Curr Ther Res. 2006;67:396-405.
16. Arruzazabala ML, Mas R, Carbajal D, Molina V. Effect of D-004, a lipid extract from the Cuban royal palm fruit, on in vitro and in vivo effects mediated by alpha-adrenoceptors in rats. Drugs R D. 2005;6: 281-9.
17. Arruzazabala ML, Mas R, Molina V, Noa M, Carbajal D, Mendoza N. Effects of D-004, a lipid extract from the Cuban royal palm fruit, on atypical prostate hyperplasia induced by phenylephrine in rats. Drugs R D. 2006;7: 233-241.
18. Schlede E, Mischke U, Diener W, Kayser D. The International Validation Study of the Acute Toxic Class Method (oral). Arch Toxicol. 1994;69:659-70.
19. Organization for Economic Co-operation and Development. Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. 2002.
20. Barile FA. Principles of toxicology testing. Boca Raton: CRC Press; 2008.
21. Hall RL. Clinical pathology of laboratory animals. In: Gad SC. editor. Animal models in toxicology. Boca Raton: CRC Press; 2007. p. 787-830.
22. Alemán CL, Mas RM, Rodeiro I, Noa M, Hernández C, Menéndez R, et al. Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months. Lab Animals. 1998;32:457-66.

23. Gámez R, Mas R, Noa M, León EF, García H, Goicochea E, et al. Carcinogenicity study of D003 in Sprague Dawley rats: aone year partial report. Rev CNIC Cien Biol. 2005; 36: 205-11.
24. Greaves GJ, Faccini JM. Rat histopathology. Amsterdam: Elsevier; 1984.
25. Giknis MLA, Clifford CB. Compilation of spontaneous neoplastic lesions in survival in Crl: CD-1 (SD) rats from control groups. Boca Raton: Charles River Laboratories; 2004.

Recibido: 7 de junio de 2012.
Aprobado: 16 de julio de 2012.

Ariadne Gutiérrez Martínez. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Calle 198, e/ 19 y 21, Atabey, Playa, Apartado Postal 6414, La Habana, Cuba. Correo electrónico: ariadne.gutierrez@cnic.edu.cu

Tabla 1. Peso corporal

Grupos (mg/kg)		Hembras		Machos	
		Inicio	Final	Inicio	Final
Aguda					
Control	0	203,8 ± 3,25	248,7 ± 8,35	212,7± 3,46	275,9 ± 21,2
D-004	2 000	203,8 ± 3,26	245,4 ± 8,67	212,7± 3,37	279,1 ± 16,4
Subcrónica					
Control	0	206,4 ± 10,4	399,1 ± 31,9	185,5 ± 9,2	244,3 ± 17,9
D-004	500	206,3 ± 10,0	419,5 ± 37,1	185,5 ± 9,1	240,3 ± 18,4
D-004	1 000	206,4 ± 9,6	419,9 ± 28,8	185,5 ± 8,8	246,4 ± 14,9
D-004	2 000	206,3 ± 9,8	432,5 ± 42,4	185,5 ± 9,1	239,5 ± 13,8
Crónica					
Control	0	193,50 ± 9,3	373,74 ± 41,5	223,20 ± 8,9	613,53 ± 61,6
D-004	800	193,50 ± 9,9	389,15 ± 62,1	223,25 ± 10,5	618,15 ± 76,3
D-004	1 500	193,50 ± 7,9	369,80 ± 43,5	223,20 ± 9,9	606,65 ± 75,8
D-004	2 000	193,50 ± 9,1	369,83 ± 42,3	223,20 ± 10,2	587,60 ± 79,1

[Regresar](#)

Tabla 2. Indicadores hematológicos y bioquímicos en ratas Sprague Dawley tratadas con D-004 por 3 meses

Grupos (mg/kg)		Hematología				
		Hb	Hto	Plaquetas	WBC	RBC
		Machos				
Control	0	13,4 ± 1,11	41,3 ± 3,24	529 ± 188	5414 ± 1878	7,09 ± 0,51
D-004	500	13,9 ± 1,61	40,7 ± 2,10	457 ± 195	5385 ± 1122	7,01 ± 0,77
D-004	1 000	13,2 ± 1,02	40,8 ± 2,65	532 ± 195	5407 ± 1854	7,21 ± 0,54
D-004	2 000	12,7 ± 1,79	38,8 ± 5,10	478 ± 178	4950 ± 2105	6,88 ± 0,87
		Hembras				
Control	0	12,5 ± 1,23	38,2 ± 2,72	482 ± 143	4562 ± 976	6,60 ± 0,63
D-004	500	12,5 ± 1,48	38,4 ± 3,93	501 ± 207	4508 ± 1099	6,61 ± 0,64
D-004	1 000	12,2 ± 1,30	37,3 ± 3,06	548 ± 146	4343 ± 1784	6,51 ± 0,51
D-004	2 000	12,2 ± 1,00	37,4 ± 2,95	541 ± 166	4614 ± 1232	6,48 ± 0,49
Bioquímica						
		Machos				
		Ache (U)	Glucosa (mmol/L)	Creatinina (mmol/L)	ALT (IU)	AST (IU)
Control	0	0,376 ± 0,079	4,593 ± 1,472	115,7 ± 27,2	35,51 ± 14,0	54,22 ± 20,0
D-004	500	0,375 ± 0,083	4,581 ± 1,495	130,9 ± 27,0	31,02 ± 5,9	54,23 ± 12,1
D-004	1 000	0,396 ± 0,066	5,214 ± 1,152	133,0 ± 26,1	38,41 ± 28,2	57,09 ± 17,2
D-004	2 000	0,375 ± 0,127	5,485 ± 1,361	120,9 ± 20,2	33,89 ± 11,4	61,56 ± 22,6
		Hembras				
Control	0	0,418 ± 0,104	4,60 ± 1,20	115,7 ± 27,2	28,96 ± 7,4	53,86 ± 9,4
D-004	500	0,450 ± 0,099	5,10 ± 1,62	130,9 ± 27,0	26,33 ± 5,8	53,24 ± 17,1
D-004	1 000	0,455 ± 0,069	5,52 ± 1,08	133,0 ± 26,1	28,01 ± 9,1	54,19 ± 10,6
D-004	2 000	0,447 ± 0,055	5,53 ± 1,17	120,9 ± 20,2	27,22 ± 9,5	52,65 ± 9,5

[Regresar](#)

Tabla 3. Indicadores hematológicos y bioquímicos en ratas Sprague Dawley tratadas con D-004 por 12 meses

Hematología						
Grupos (mg/kg)		Hb	Hto	Plaquetas	Glóbulos rojos x 10 ⁶ /L	Leucocitos x 10 ³ /L
Machos						
Control	0	13,52 ± 0,76	42,95 ± 2,84	871,26 ± 239,64	7,53 ± 0,44	6,13 ± 2,01
D-004	800	13,51 ± 0,62	42,26 ± 2,48	903,35 ± 150,36	7,33 ± 0,47	6,41 ± 1,73
D-004	1 500	13,62 ± 1,02	43,33 ± 3,59	921,30 ± 275,32	7,57 ± 0,67	6,38 ± 2,08
D-004	2 000	13,71 ± 0,71	43,30 ± 2,80	938,55 ± 192,18	7,56 ± 0,38	6,14 ± 1,56
Hembras						
Control	0	12,62 ± 0,65	38,33 ± 2,31	603,42 ± 201,41	6,43 ± 0,38	3,17 ± 0,91
D-004	800	12,61 ± 0,60	38,27 ± 2,20	583,70 ± 255,80	6,47 ± 0,41	3,55 ± 1,17
D-004	1 500	12,57 ± 0,65	38,24 ± 2,01	641,55 ± 196,23	6,48 ± 0,36	3,51 ± 1,11
D-004	2 000	12,65 ± 0,58	38,30 ± 1,76	676,33 ± 296,73	6,46 ± 0,30	3,40 ± 0,98
Bioquímica						
Machos						
		Ache(U)	Glucosa (mmol/L)	Creatinina (mmol/L)	ALT (IU)	AST (IU)
Control	0	0,37 ± 0,12	6,40 ± 0,94	40,01 ± 7,75	43,44 ± 12,84	104,03 ± 24,84
D-004	500	0,39 ± 0,09	6,35 ± 1,18	40,35 ± 6,27	41,11 ± 10,94	105,36 ± 20,87
D-004	1 000	0,37 ± 0,09	6,65 ± 1,44	41,68 ± 6,17	38,56 ± 10,48	98,06 ± 25,12
D-004	2 000	0,39 ± 0,09	5,86 ± 0,95	40,00 ± 8,07	40,12 ± 16,83	101,57 ± 27,29
Hembras						
Control	0	0,45 ± 0,12	6,63 ± 1,32	50,26 ± 9,11	32,18 ± 7,41	78,41 ± 16,61
D-004	500	0,47 ± 0,13	6,18 ± 1,02	50,22 ± 7,44	32,85 ± 6,31	87,68 ± 16,67
D-004	1 000	0,47 ± 0,12	5,91 ± 1,23	49,60 ± 6,66	34,42 ± 15,13	84,42 ± 19,67
D-004	2 000	0,46 ± 0,12	6,03 ± 1,06	51,38 ± 5,13	30,69 ± 8,76	82,42 ± 18,86

[Regresar](#)

Tabla 4. Lesiones histopatológicas neoplásicas observadas en ratas Sprague Dawley tratadas con D-004 por 12 meses

	Hembras				Machos			
	Control	800	1 500	2 000	Control	800	1 500	2 000
	n= 20	n= 20	n= 20	n= 20	n= 20	n= 20	n= 20	n= 20
Tejido celular subcutáneo								
Histiocitoma	2	0	0	0	0	0	0	0
Histiocitoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Sistema reproductor								
Leiomioma	0	0	0	1	-	-	-	-
Pólipo endometrial	0	1	0	0	-	-	-	-
Sistema hemolinfopoyético								
Tímoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Adenoma de	0	0	0	0	0	0	1	0

[Regresar](#)